

**METHOD FOR FRACTIONING 7S PROTEIN**

**Patent number:** JP5043597  
**Publication date:** 1993-02-23  
**Inventor:** NAGANO TAKAO; others: 02  
**Applicant:** FUJI OIL CO LTD  
**Classification:**  
**- international:** C07K15/10; C07K3/12  
**- european:**  
**Application number:** JP19910201611 19910812  
**Priority number(s):**

**Report a data error here**

**Abstract of JP5043597**

**PURPOSE:** To fraction a large amount of high-purity 7S protein derived from soybean protein by adjusting ionic strength and pH value of a protein-containing solution into specific ranges to remove an insoluble fraction and further adjusting the ionic strength and the pH to collect the formed insoluble fraction.

**CONSTITUTION:** De-fatted soybeans are mixed with water, stirred by a homomixer at room temperature at low speed, extracted with 20% sodium hydroxide solution for 30 minutes while maintaining pH 7.5, the extracted solution is filtered with a filter cloth, then insoluble materials are removed by centrifuging, the obtained protein-containing (soybean milk) is adjusted to 0.2-0.3 ionic strength with sodium hydrogensulfite, to pH 4.8-5.2 with 20% hydrochloric acid, allowed to stand by cooling with ice for 24 hours, the precipitated insoluble protein fraction is centrifuged, removed, further the supernatant liquid is adjusted to <0.2 ionic strength with sodium chloride, to pH 4.6-5.0 with 20% hydrochloric acid, allowed to stand at 4 deg.C and the formed insoluble fraction is centrifuged to fraction the objective 7S protein of  $\geq 90\%$  high-purity.

---

Data supplied from the *esp@cenet* database - Patent Abstracts of Japan

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-43597

(43) 公開日 平成 5 年 (1993) 2 月 23 日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 15/10		7731-4H		
3/12		7731-4H		

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願平3-201611	(71) 出願人 000236768 不二製油株式会社 大阪府大阪市中央区西心斎橋 2 丁目 1 番 5 号
(22) 出願日 平成 3 年 (1991) 8 月 12 日	(72) 発明者 長野 隆男 茨城県北相馬郡守谷町松前台 4-2-3 (72) 発明者 廣塚 元彦 茨城県北相馬郡守谷町松前台 4-2-3 (72) 発明者 森 弘之 千葉県我孫子市つくし野 1-15-20 (74) 代理人 弁理士 青木 朗 (外 3 名)

(54) 【発明の名称】 7 S 蛋白の分画法

(57) 【要約】

【目的】 蛋白含有物質から 7 S 蛋白を 85% 以上、好ましくは 90% 以上の高純度で分画する。

【構成】 蛋白含有物質のイオン強度を 0.2~0.3 に調整し、かつ pH 値を 4.8~5.2 に調整して不溶画分を除いた後、さらにイオン強度を 0.2 未満および pH 値を 4.6~5.0 に調整して生ずる不溶画分を分取する。

【効果】 本発明により、従来低純度でしか得られなかった 7 S 蛋白を 90% 以上の高純度で分画することが可能となったのであり、同蛋白の基礎研究のみならず産業上の蛋白利用分野に多大の貢献をなすものである。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 7S蛋白の分画法であって、蛋白含有溶液のイオン強度を0.2～0.3に調整し、かつpH値を4.8～5.2に調整して不溶画分を除いた後、さらにイオン強度を0.2未満およびpH値を4.6～5.0に調整して生ずる不溶画分を分取することを特徴とする方法。

【請求項2】 蛋白が大豆蛋白由来である、請求項1記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、蛋白含有物質、特に大豆蛋白からの7S蛋白の分画法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 植物の種子は、一般にグロブリン画分としてその沈降定数から分類される2S、7S、11S、15S等の蛋白を含んでいる。この内、7Sと11Sはグロブリン画分の主要な構成蛋白成分であり、この両者は粘性・凝固性・界面活性等において特異的に異なる性質を有する。従って、7Sと11Sを分画することにより両蛋白の性質を利用することが可能となる。即ち、この2大蛋白成分である7Sと11Sを高純度で分画分取することは、基礎研究のみならず産業上の蛋白利用技術としても両者の蛋白を各々個別にまたは適当な比率で混合して利用する上で、極めて有意義であると考えられる。

【0003】 従来、このような蛋白の分画に当たって、11S蛋白画分はThanhらの方法(J. Agr. Food Chem. (1976) 24, 1117)、あるいは廣塚らの方法(特開昭61-236795号)等に開示されている方法により比較的容易に高純度で分取することができるが、7S蛋白画分に関しては純度が高々80%程度のものしか得られず、より精製度を上げるにはゲルろ過やアフィニークロマトグラフィー等を用いる必要があり、大量にかつ安定的に精製することは困難であった。なお、本発明において言う純度は、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で得られたパターンのデンストメトリーによる面積比に基づいている。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は、従来より純度が高々80%程度のものしか得られなかった7S蛋白画分を、85%以上好ましくは90%以上の純度で効率良く分画することを目的とするものである。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者は、如上の点に鑑み、蛋白含有物質から7S蛋白を85%以上、好ましくは90%以上の高純度で且つ大量に分画する方法について鋭意研究した結果、イオン強度とpHの関係を調整することにより可能であるという知見を得た。本発明はかかる知見に基づいて完成されたものである。

【0006】 即ち本発明によれば、7S蛋白を主成分とする画分の分画法であって、蛋白含有溶液のイオン強度を0.2～0.3に調整し、かつpH値を4.8～5.2に調整して不溶画分を除いた後、さらにイオン強度を0.2未満およびpH値を4.6～5.0に調整して生ずる不溶画分を分取することを特徴とする方法が提供される。

【0007】 本発明における蛋白含有物質は、大豆、菜種、落花生、綿実等の油糧種子およびこれらの油糧種子から得られる7S蛋白を含むものであれば全て用いることができる。原料の入手性、経済性等の点から大豆蛋白原料が好ましく、例えば圧縮大豆、脱脂大豆、豆乳(乾燥粉末も含む)、濃縮大豆蛋白、分離大豆蛋白等の大豆蛋白を含む原料を好適に用いることができる。

【0008】 以下、本発明法の概略を説明する。まず、上記する如く、7S蛋白を含有する蛋白含有物質の水溶液を調製する。この蛋白含有物質の水溶液は、出発原料から水もしくは塩水により抽出した水溶液であってもよく、また幾つかの精製プロセスを経た中間段階の水溶液であってもよい。例えば植物性蛋白質の7S蛋白および11S蛋白を含んだ水溶液でもよいし、また公知の方法により11S蛋白を除去したものであってもよい。

【0009】 次いで、調製した7S蛋白を含有する水溶液のイオン強度を0.2～0.3に調整する。イオン強度が0.2より低ければ次の操作で7S蛋白をほとんど回収することができず、またイオン強度が0.3より高いと11S蛋白の混入が多くなり、7S蛋白の純度が悪くなる。

【0010】 次に、pH値を4.8～5.2に調整して沈澱する不溶画分を除く。(以下、この不溶画分を便宜上α沈澱と呼称する。) pH値が4.8以下であれば7S蛋白がほとんど回収できなくなり、また5.2以上であれば11S蛋白の混入が多くなって7S蛋白の純度が悪くなる。

【0011】 しかる後、イオン強度を0.2未満とし、pH値を4.6～5.0に調整することによって7S蛋白画分を沈澱させ分取する。イオン強度が0.2以上であればpH値を4.6～5.0に調整しても7S蛋白画分の回収が困難となり、またイオン強度を0.2未満にしてもpH値を4.6～5.0に調整しなければ同様に7S蛋白画分の回収が困難となり、本発明の目的を達成することができない。

【0012】 一方、本発明法の実施に際して、還元剤を併用することにより7S蛋白画分の純度を変えず、収量を増加させることができる。還元剤としては亜硫酸水素ナトリウム、ヒドロスルファイト等が例示できる。

【0013】 このようにして得られる高純度の7S蛋白画分は、pH値を適当に調節した後、ペーストとして若しくは乾燥して用いることができ、殺菌処理が必要な場合はHTST処理することが可能である。

【0014】

【実施例】以下、実施例を例示して本発明の効果をより一層明瞭にするが、これは例示であって本発明の精神がこれらの例示によって制限されるものではない。なお、例中に示す部、%は何れも重量基準を意味する。

【0015】【実施例1】脱脂大豆(粗蛋白:46.2%, NSI:87)1部に15部の水を加え、ホモミキサーにて室温下に低速で攪拌、20%水酸化ナトリウム溶液でpH7.5に維持しながら30分間抽出した。しかる後、抽出液をろ布でろ過し、次いで9200Gで20分間遠心分離して不溶物を除去した。

【0016】このようにして得た抽出液(豆乳)に、10mMになるように亜硫酸水素ナトリウム(SO<sub>2</sub>含量60~69%のものを豆乳1リットルに対し0.98g)を加え、20%の塩酸でpH6.4に調製した後、氷水中\*

\*で一夜放置して沈澱した蛋白画分を6760Gで20分間遠心分離することにより11S蛋白画分を分離した。

【0017】次に、得られた上澄液が0.25Mの溶液(即ち、イオン強度0.25)になるように塩化ナトリウムを添加し、20%塩酸でpH5.0に調整した。調整後30分間、4℃に放置後、6760Gで20分間遠心分離することにより不溶性部分α沈澱を分離した。

【0018】その後、上澄液を冷水で2倍希釈し、イオン強度0.125, pH4.8に調整して、6760Gで20分間(4℃)で遠心分離することにより7S蛋白画分を得た。表1に豆乳の蛋白質量を100としたときのマテリアルバランスを示す。

【0019】

【表1】

各画分に含まれる蛋白質のマテリアルバランス(%)

豆 乳	11S画分	α沈澱	7S画分	ホエー
100	36	22	23	19

【0020】一方、11S蛋白画分・及び・7S蛋白画分のSDS-ポリアクリルアミド電気泳動のゲルのデンストメトリーパターンをそれぞれ図1及び図2に示した。

【0021】この結果から本発明法で得られる11S蛋白画分および7S蛋白画分は90%以上の純度であることが明らかである。

【0022】【実施例2】実施例1の方法に従って実施し、11S蛋白を分画した後、α沈澱を分離するときのpH値およびイオン強度が7S蛋白画分の純度、収量に及※

※ばす影響を見た。なお、7S蛋白画分はpH4.8およびイオン強度0.125の条件で得た。

【0023】図3および図4に塩化ナトリウムの0.25Mおよび0.3M濃度下でのpH値を変えたときに得られたα沈澱及び7S蛋白画分の蛋白質量を示した。また、表2にそれらの条件で得られた7S蛋白画分での7S蛋白の純度を示した。

【0024】

【表2】

7Sグロブリン画分の純度(%)

NaCl conc. pH	4.8	5.0	5.2
0.25M	91	93	92
0.3M	87	89	85

【0025】この結果から、α沈澱を分離するときのpH値は5.0およびイオン強度は0.25の条件が最適であった。

【0026】【実施例3】実施例1において、亜硫酸水素ナトリウムを用いずに実施例1に従って実施し7S蛋白画分を精製したところ、7S蛋白の純度にそれほど大きな差異はみられなかったが、蛋白質の収量が2/3に低下した。

【0027】この結果から、亜硫酸水素ナトリウムを用いることにより、高収率高純度で7S蛋白画分の得ることが判った。

【0028】

【発明の効果】従来では、蛋白含有物質から高々80%程度の純度でしか得られなかった7S蛋白画分が、本発明法により90%以上の高純度で分取できるようになった。

【図面の簡単な説明】

【図1】11S画分のSDSポリアクリルアミド電気泳動のゲルのデンストメトリーパターンである。

【図2】7S画分のSDSポリアクリルアミド電気泳動のゲルのデンストメトリーパターンである。

50 【図3】塩化ナトリウム0.25Mにおける各pHでのα

5

6

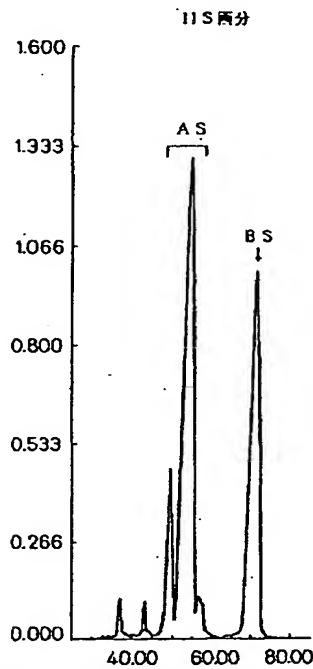
沈殿及び7 S画分の蛋白質質量を示すグラフである。

殿及び7 S画分の蛋白質質量を示すグラフである。

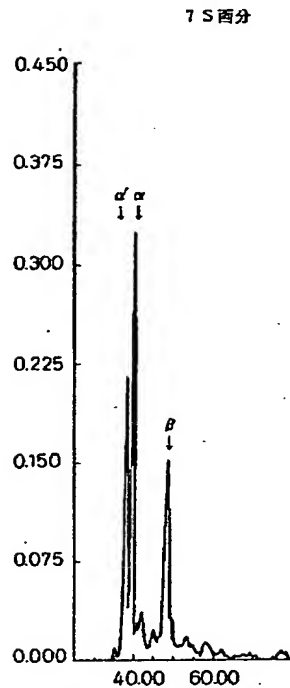
【図4】塩化ナトリウム0.3Mにおける各pHでの $\alpha$ 沈

【図1】

【図2】



☆ A.S. B.Sはそれぞれ11Sの酸性サブユニット、塩基性サブユニットを示す。



☆  $\alpha'$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ はそれぞれ7Sの $\alpha'$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ サブユニットを示す。

【図3】

【図4】

